

12 **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

21 Anmeldenummer: 80106584.8

51 Int. Cl.³: A 61 B 5/00
G 01 N 21/21, G 01 N 33/66

22 Anmeldetag: 27.10.80

30 Priorität: 31.10.79 DE 2944113

43 Veröffentlichungstag der Anmeldung:
24.06.81 Patentblatt 81/25

64 Benannte Vertragsstaaten:
AT CH FR GB LI NL

71 Anmelder: Müller, Arno, Dr. Dipl.-Phys.
Gartenhalde 22
D-7900 Ulm-Mähringen(DE)

72 Erfinder: Müller, Arno, Dr. Dipl.-Phys.
Gartenhalde 22
D-7900 Ulm-Mähringen(DE)

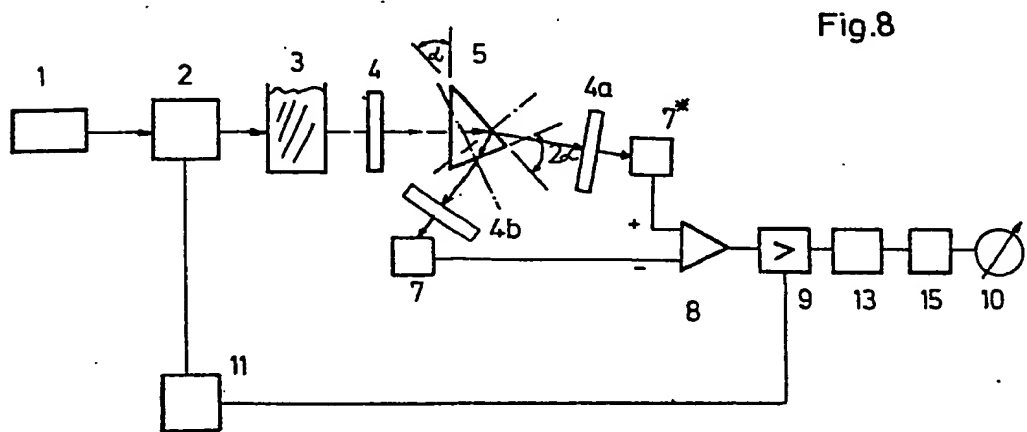
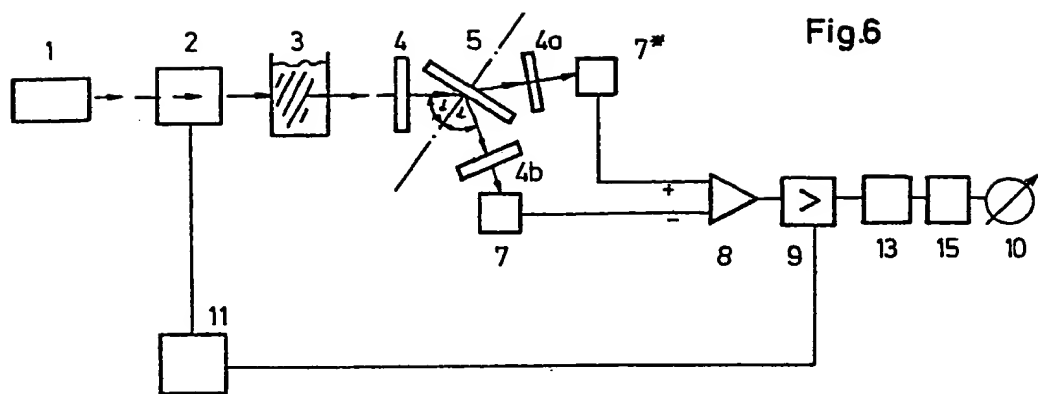
74 Vertreter: Beetz, sen., Richard, Dipl.-Ing. Patentanwälte
Dipl.-Ing. R. Beetz sen. Dipl.-Ing. K. Lamprecht, Dr. Ing. R.
Beetz jr. et al,
Rechtsanwalt Dipl.-Phys. Dr. jur. U. Heidrich, Dr.-Ing. W.
Timpe Dipl.-Ing. J. Siegfried Priv.-Doz. Dipl.-Chem.
Dr. rer. nat. W. Schmitt-Furnian
Steinsdorfstrasse 10 D-8000 München 22(DE)

64 Verfahren und Vorrichtung zur quantitativen Bestimmung optisch aktiver Substanzen.

57 Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung gelöster optisch aktiver Substanzen in Gegenwart anderer, ebenfalls optisch aktiver Substanzen durch Polarimetrie sowie ein hochempfindliches Polarimeter, das sich hierfür einsetzen läßt. Das Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, daß zur quantitativen Bestimmung einer optisch aktiven Substanz, deren Konzentration einer zeitlichen Änderung unterliegt, die von der zeitlichen Änderung der Konzentration der anderen optisch aktiven Substanzen hinreichend verschieden ist, die Signalkomponente mit der Konzentrationsänderungsfrequenz der zu bestimmenden Substanz von den übrigen Signalkomponenten abgetrennt wird. Das erfindungsgemäße Polarimeter unterscheidet sich darin von herkömmlichen Polarimetern mit elektronischer Signalerzeugung, daß als Strahlteiler und Analysator eine planparallele Platte (5) oder ein Prisma (5) verwendet wird, wobei der herkömmliche Analysator entfällt und eine außerordentlich hohe Empfindlichkeit erzielt wird, die beispielsweise die Glucosebestimmung bei in-vivo-Konzentrationen erlaubt. Zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens weist das Polarimeter einen Signalteiler (13) zur Frequenzdiskriminierung auf. Es ist ferner mikrominiaturisierbar und kann implantierbar ausgeführt sein.

EP 0 030 610 A1

/...



Verfahren und Vorrichtung zur quantitativen
Bestimmung optisch aktiver Substanzen

- 5 Die Erfindung betrifft ein hochempfindliches Ver-
fahren zur quantitativen Bestimmung optisch aktiver Sub-
stanzen auch in sehr kleinen Konzentrationen in wäßrigen
oder nichtwäßrigen Lösungen in Gegenwart anderer, eben-
falls optisch aktiver gelöster Substanzen, zB von Gluco-
10 se oder Fructose im Blut, Plasma oder Serum, durch
Polarimetrie sowie ein hochempfindliches Polarimeter,
das sich zur Durchführung dieses Verfahrens eignet.

- Die Analyse kann erfindungsgemäß sowohl in vivo,
15 dh direkt am oder im lebenden Organismus, als auch in
vitro durchgeführt werden.

Bei der Bestimmung der Konzentration optisch aktiver Substanzen kommt der Ermittlung der Glucosekonzentration im Hinblick auf die Erkennung, Behandlung und Überwachung von Diabetes besondere Bedeutung zu.

5

Es ist bereits bekannt, daß die Glucosekonzentration, meist im Serum, entweder enzymatisch oder zB durch visuelle Kolorimetrie, Titrimetrie oder Photometrie bestimmt werden kann (Pikrinsäure-Methode, Glucoseoxidase-, Peroxidase-, Hexokinase-Methode). Aus den DE-OSen 2 200 119 und 2 326 265 ist ferner bekannt, daß eine Brennstoffzelle in einen lebenden Organismus eingepflanzt werden kann, die über eine telemetrische Vorrichtung einige charakteristische Meßwerte (zB den pH-Wert, die Glucosekonzentration ua) in elektrische Signale umsetzt. Es ist auch bereits vorgeschlagen worden, die Blutglucosekonzentration durch Messung der Absorption eines Lichtstrahls im Blut bei einer bestimmten Wellenlänge zu bestimmen (vgl die US-PS 3 958 560; N. Kaiser, Optics Communication 11, Nr. 2 (1974) 175). Derartigen Messungen stehen jedoch wegen der Vielzahl von Absorptionsbanden organischer Moleküle grundsätzliche Schwierigkeiten entgegen.

25

Aus der DE-OS 2 724 543 ist ferner bekannt, die Glucosekonzentration polarimetrisch in vitro oder in vivo zu messen. Da aber bei der polarimetrischen Bestimmung zB der Glucose im Blut durch die Anwesenheit anderer optisch aktiver Substanzen eine Untergrunddrehung auftritt, die sich dem glucosebedingten Drehwert überlagert, erlaubt dieses Verfahren nur Relativmessungen. Zudem ist der apparative Aufwand infolge der erforderlichen hohen Meßempfindlichkeit von 10^{-4} bis 10^{-6} o

30

relativ hoch.

5 Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein hoch-
empfindliches schnelles und reproduzierbares Verfahren
zur quantitativen Bestimmung optisch aktiver Substanzen
auch in sehr kleinen Konzentrationen in wäßrigen oder
nichtwäßrigen und insbesondere biochemischen und biolo-
gischen Systemen in Gegenwart anderer gelöster, eben-
falls optisch aktiver Substanzen sowie ein hochempfind-
liches Polarimeter anzugeben, das sich zur Durchführung
10 dieses Verfahrens eignet.

Das Verfahren soll ferner auch zur direkten in-vivo-
Messung des Blutglucosespiegels, beispielsweise bei Diabeti-
kern, etwa auf transkutanem bzw verletzungsfreiem Wege ge-
eignet sein.
15

Das erfindungsgemäße Polarimeter soll auf einem ein-
fachen apparativen Konzept beruhen und eine höhere Empfind-
lichkeit als herkömmliche Polarimeter aufweisen. Es soll
20 sich ferner nicht nur stationär einsetzen lassen, sondern
auch aufgrund seines Konzepts hinreichend klein und
leicht ausführbar sein, so daß es beispielsweise am Kör-
per getragen oder teilweise oder ganz in ihn implantiert
werden kann.
25

Die Aufgabe wird anspruchsgemäß gelöst.

In den Unteransprüchen sind vorteilhafte Ausführungs-
formen angegeben.
30

Das erfindungsgemäße Verfahren weist den gravierenden
Nachteil herkömmlicher Verfahren nicht auf, daß nur Rela-
tivmessungen der Konzentration einer optisch aktiven Sub-

stanz in Gegenwart weiterer Substanzen mit optischer Aktivität möglich sind, und erlaubt erstmals quantitative Bestimmungen optisch aktiver Substanzen in Gegenwart anderer optisch aktiver Substanzen, insbesondere eine
5 direkte, verletzungsfreie transkutane Bestimmung des Blutglucosespiegels.

Das erfindungsgemäße Verfahren zur Bestimmung gelöster optisch aktiver Substanzen in wäßrigen oder nicht-
10 wäßrigen Lösungen in Gegenwart anderer gelöster optisch aktiver Substanzen, insbesondere zur in-vivo-Bestimmung des Blutglucosespiegels, durch Polarimetrie unter

- Bestrahlung der Probe mit linear polarisiertem Licht,
- 15 - Aufteilung des Lichtstrahls nach dem Durchlaufen der Probe mit einem Strahlteiler in einen Meßstrahl und einen Referenzstrahl,
- Messung der Intensität des Meß- sowie des Referenzstrahls mit einem Detektor,
- 20 - Erzeugung eines Differenz- oder Quotientensignals aus dem Meß- und Referenzsignal und
- Endverstärkung des resultierenden Signals zur Anzeige
25 oder Registrierung

ist dadurch gekennzeichnet, daß zur quantitativen Bestimmung einer optisch aktiven Substanz, deren Konzentration einer zeitlichen Änderung unterliegt, die von der zeitlichen Änderung der Konzentration der anderen optisch
30 aktiven Substanzen hinreichend verschieden ist, aus dem resultierenden Differenz- oder Quotientensignal die Signalkomponente mit der Konzentrationsänderungsfrequenz

der zu bestimmenden optisch aktiven Substanz durch Signalteilung von den übrigen Signalkomponenten abgetrennt wird.

Das Verfahren ist auch bei nichtperiodischen bzw
5 nicht wiederholten Konzentrationsänderungen, zB bei abklingender Konzentration der zu bestimmenden Substanz, ebenso anwendbar.

Nach einer vorteilhaften Weiterbildung des erfindungsgemäßen Verfahrens wird die Signalteilung durch
10 Frequenzbandtrennung vorgenommen. Hierzu kann günstig ein Hoch- bzw Tiefpaß bzw ein Bandpaß herangezogen werden. Ebenso vorteilhaft kann die Signalteilung auch durch Differentiation und nachfolgende Integration bzw
15 durch Differentiation, Anwendung eines Hoch- bzw Tiefpasses und nachfolgende Integration vorgenommen werden. Es ist ferner günstig, eine etwa vorhandene Untergrunddrehung durch Addition einer Gleichstromkomponente zu kompensieren.

20

Vor oder im Endverstärker können evtl bei der Frequenzbandtrennung auftretende Amplituden- und/oder Phasenfehler vorteilhafterweise ausgeglichen werden.

25 Das erfindungsgemäße Verfahren ist auf alle Systeme anwendbar, bei denen die zeitliche Konzentrationsänderung der optisch aktiven Substanzen und damit die zeitliche Änderung der entsprechenden Inkremente des optischen Drehwerts hinreichend voneinander verschieden sind. Die Trennbarkeit der zu den einzelnen optisch
30 aktiven Substanzen gehörigen Drehwertkomponenten hängt von der Steilheit der Dämpfungskurve des zur Frequenzbandtrennung verwendeten Bandpasses ab. Mit üblichen

RC-Gliedern lassen sich beispielsweise Frequenzen, die um den Faktor 1,5 voneinander verschieden sind, noch ohne weiteres zur Signalteilung voneinander trennen. Dieser Faktor stellt jedoch keinen Grenzwert dar.

5

Die Meßdauer hängt von der Konzentrationsänderungsfrequenz der zu bestimmenden optisch aktiven Komponente ab. Bei einer mittleren Frequenz von etwa 10^{-4} Hz resultiert eine Periodendauer von 10^4 s und damit eine Mindest-Meßdauer von etwa 3 h.

10

Das erfindungsgemäße Konzept wird im folgenden anhand der in-vivo-Glucosebestimmung näher erläutert.

15

Die Schwierigkeit der Trennung des polarimetrisch gemessenen glucosebedingten Drehwerts von der durch Proteine, Cholesterin und Lipide bedingten Untergrunddrehung kann erfindungsgemäß infolge des sehr verschiedenen zeitlichen Konzentrationsverlaufs dieser Blutbestandteile überwunden werden.

20

Die Glucosekonzentration im Blut ändert sich mit einer maximalen Frequenz von etwa 8×10^{-3} Hz, während sich die Konzentration der Proteine und Blutfette im Normalfall mit einer maximalen Frequenz von etwa 10^{-5} Hz ändert.

25

Aufgrund dieses unterschiedlichen Verhaltens wird erfindungsgemäß eine Trennung der entsprechenden Meßwerte bei der Signalverarbeitung vorgenommen.

30

Durch Frequenzbandtrennung, beispielsweise durch Differentiation und anschließende Integration bzw

- Differentiation der Signalspannung, Signalteilung zur Abtrennung der tiefen Frequenzen (Hochpaß) und nachfolgende Integration, ggf unter Addition einer Gleichstromkomponente, die zB vom Ausgang des
- 5 Differenz- oder Quotientenbildners gewonnen werden kann oder durch ein Frequenzbandfilter bzw eine Frequenzweiche als Signalteiler, wird eine quantitative Bestimmung der Glucosekonzentration in Gegenwart anderer optisch aktiver Substanzen ermöglicht.
- 10 Dabei wird das Amplituden- und Phasenverhalten des Hochpasses vorteilhaft so ausgebildet, daß das gesamte Frequenzband der reinen Glucosedrehung wiederhergestellt wird.
- 15 Die erfindungsgemäß mögliche quantitative Bestimmung der Konzentration einer oder mehrerer optisch aktiver Komponenten in flüssigen Systemen in Gegenwart anderer optisch aktiver Substanzen beruht demgemäß darauf, daß das unterschiedliche Zeit-Konzentrations-Verhalten
- 20 der einzelnen optisch aktiven Komponenten durch Anwendung geeigneter Signaltrennverfahren zur Unterscheidung der betreffenden Substanzen und ihrer selektiven quantitativen Bestimmung ausgenutzt wird.
- 25 Die quantitative und zugleich selektive Bestimmung optisch aktiver Substanzen in sehr kleinen Konzentrationen setzt ferner eine hohe Empfindlichkeit der Bestimmungsmethode bzw des entsprechenden Polarimeters voraus. Bei herkömmlichen Polarimetern erfolgt die Ermittlung
- 30 des Drehwerts des polarisierten Lichts nach Durchlaufen der Probe mit einem Analysator, der eine Änderung der Intensität des in seiner Polarisationssebene gedrehten

Lichts bewirkt (vgl die DE-OS 2 724 543), da er nur für Licht voll durchlässig ist, das in seiner Polarisationsrichtung schwingt. Ist die Polarisations-
ebene des auffallenden Lichts um den Winkel φ zur Polarisationsrichtung des Analysators gedreht, so ergibt
sich, da die Intensität proportional zum Quadrat der Amplitude ist, der Zusammenhang

$$I = I_0 \cdot \cos^2 \varphi \quad (1).$$

Für die Empfindlichkeit derartiger herkömmlicher Polarimeter folgt daraus

$$\frac{dI}{d\varphi} = I_0 \cdot 2 \cdot \cos \varphi \cdot \sin \varphi \quad (2).$$

Gleichung (2) stellt den formelmäßigen Ausdruck für die bekannte Tatsache dar, daß bei einer Verdrehung der Polarisations-
ebene um 45° zur ursprünglichen Polarisationsrichtung maximale Empfindlichkeit resultiert. Bei
Anordnungen mit Strahlteiler, wie etwa aus der CH-PS 441 814 sowie der DE-OS 2 724 543 bekannt, ist die
Empfindlichkeit von der Absolutintensität unabhängig, und es gilt

$$\frac{dI}{d\varphi} = 1 \quad (3).$$

Die Empfindlichkeit herkömmlicher Polarimeter, bei denen die Drehung der Polarisations-
ebene des nach der Probe resultierenden Lichts gegenüber der Polarisations-
ebene des Lichts vor der Probe mit einem Analysator bestimmt wird, ist daher theoretisch begrenzt.

Eine Erhöhung der Empfindlichkeit wird erfindungsge-

mäß zum einen dadurch erreicht, daß das polarisierte Licht der Lichtquelle, bevor es zur Probe gelangt, zunächst einen Modulator durchläuft. Das von der Probe ausgehende Signalfrequenzband ist demgemäß zweifach moduliert (zweifache Lichtmodulation). Der erste Modulator (zB ein Faraday-Modulator) arbeitet im Nieder- oder Hochfrequenzbereich, je nachdem, welche höchsten Frequenz die Lichtdetektoren verarbeiten können. Als Beispiel sei im einfachsten Fall 1000 Hz genannt. Nach dem Durchlaufen der Probe ist die Lichtfrequenz zweifach (phasen-) moduliert. Somit muß auch zweimal demoduliert werden. Die erste Demodulation kann zB durch Ausnutzung der Abhängigkeit des Reflexionskoeffizienten vom Azimutwinkel erfolgen. Die dabei erhaltene Nieder-(Hoch-)frequenz kann dann in einem Wechselstromverstärker (einem selektiven Verstärker oder Lock-in-Verstärker) verstärkt und dann (das zweite Mal) demoduliert werden. Auf diese Weise kann die Empfindlichkeit begrenzende Signal-Rausch-Verhältnis erfindungsgemäß um mindestens eine Größenordnung verbessert werden.

Anstelle der Phasenmodulation kann der Lichtstrahl ebenso eine Frequenz- oder Amplitudenmodulation aufweisen, wobei dann die Demodulationseinrichtung (zweiter Demodulator) auf die jeweilige Modulationsart abzustimmen ist.

Die erfindungsgemäß erzielte Empfindlichkeitssteigerung besteht andererseits darin, daß der bisher als zwingend erforderlichlich angesehene diskrete Analysator (erster Demodulator), mit dem die probenbedingte Drehung der Polarisationssebene des eingestrahlteten Lichts ermittelt wurde, weggelassen wird:

Trifft ein polarisierter Lichtstrahl, der zuerst die Probe und ggf auch den Modulator durchsetzt hat, auf eine planparallele Platte, die gleichzeitig auch als Strahlteiler dient, so ist die reflektierte Intensität vom Einfallswinkel α sowie vom Azimutwinkel φ , dh dem Winkel der Schwingungsebene des eingestrahnten Lichts zur Einfallsebene, abhängig; der durch die Platte hindurchgehende Anteil, dh die Intensität des gebrochenen Lichts, ist ebenfalls in bekannter Weise vom Winkel α abhängig (vgl zB Bergmann, Schäfer, Lehrbuch der Experimentalphysik, Bd III, Optik, Walter de Gruyter & Co Verlag, Berlin (1966)). Dabei ist bemerkenswert, daß der Reflexionskoeffizient im Bereich oberhalb des Polarisationswinkels stark zunimmt, während der Durchlässigkeitskoeffizient im genannten Bereich abnimmt.

20

Die Empfindlichkeit kann aus der Änderung des Reflexionskoeffizienten sowie des Durchlässigkeitskoeffizienten durch Bildung der Ableitung nach dem Winkel α berechnet werden. In erster Näherung genügt es, den Reflexionskoeffizienten zu betrachten, da sich der Durchlässigkeitskoeffizient weniger stark mit α ändert. Weiterhin muß noch die Ableitung nach dem Azimutwinkel φ durchgeführt werden, da bei der polarimetrischen Messung ja nur dieser geändert wird. Daraus folgt für die Änderung des Reflexionskoeffizienten als Empfindlichkeit des

30

erfindungsgemäßen Polarimeters:

$$\frac{d\rho_p}{d\varphi_e} = \frac{\partial \rho_p}{\partial \alpha} \cdot \frac{\partial \alpha}{\partial \varphi_e} =$$

$$\begin{aligned} & n^3(n^2-1) \cdot \left\{ (\cos\alpha \sqrt{1-\frac{\sin^2\alpha}{n^2}} + \frac{\sin^2\alpha}{n})^2 + \operatorname{tg}^2\varphi_r (\cos\alpha \sqrt{1-\frac{\sin^2\alpha}{n^2}} - \frac{\sin^2\alpha}{n})^2 \right\} \\ & = \frac{\operatorname{tg}\varphi_r \sqrt{n^2-\sin^2\alpha} \left\{ n^2-\sin^2\alpha + 2n^2\cos\alpha \sqrt{n^2-\sin^2\alpha} + n^4\cos^2\alpha \right\} [2-(1+\frac{1}{n^2})\sin^2\alpha]}{\quad} \quad (4), \end{aligned}$$

wobei bedeuten:

- 10 ρ_p den Reflexionskoeffizienten (Schwingungsebene der Strahlung parallel zur Einfallsebene),
 α den Einfallswinkel der Strahlung, zum Einfallslot hin gemessen,
 φ_e den Winkel der einfallenden Strahlung zur Einfallsebene,
 15 φ_r den Winkel der reflektierten Strahlung zur Einfallsebene und

n den Brechungsindex (Luft-reflektierendes Medium).

Die quantitative Auswertung der Gleichung (4) für die Werte $n = 1,5$, $\varphi_e = 5,7^\circ$ und $\alpha = 70^\circ$ ergibt unter Mitberücksichtigung der Änderung des Durchlässigkeitskoeffizienten den Faktor 16 für die Steigerung der Empfindlichkeit gegenüber einem herkömmlichen Polarimeter, für das Gleichung (3) gilt; der Faktor 16 setzt sich aus dem Faktor 8 der Änderung des Reflexionskoeffizienten und dem Faktor 2 der Änderung des Durchlässigkeitskoeffizienten zusammen. Ein derartiges erfindungsgemäßes Polarimeter weist somit eine gegenüber herkömmlichen Polarimetern wesentlich erhöhte Empfindlichkeit auf.

30 Daraus folgt, daß erfindungsgemäß der herkömmliche Analysator entfallen kann, wenn die Reflexion am optisch dünneren oder dichten Medium zur (ersten) Demodulation ausgenutzt wird; dabei kann der reflektierte Strahl als Meßstrahl und der gebrochene Strahl als Referenzstrahl verwendet werden, wobei diese Zuordnung jedoch nicht zwingend ist.

Anstelle der planparallelen Platte, die bei der

erfindungsgemäßen Anordnung als Strahlteiler sowie als erster Demodulator verwendet wird, läßt sich gemäß der Erfindung auch ein Prisma verwenden. Dabei wird das Prisma so durchstrahlt, daß der polarisierte Lichtstrahl, der von der Probe kommt, senkrecht auf eine Prismenfläche auftrifft, so daß keine Reflexion auftritt. Erst an der rückwärtigen Prismenfläche zum dünneren Medium hin wird der Lichtstrahl in einen reflektierten und in einen gebrochenen Strahl aufgeteilt. Der reflektierte Strahl wird beim Austritt aus dem Prisma ebenfalls gebrochen. Somit resultiert eine im Prinzip gleiche Anordnung wie bei der planparallelen Platte erläutert; der reflektierte Strahl liefert vorzugsweise die Signalspannung, während der gebrochene Strahl die Referenzspannung ergibt.

Diese Anordnung mit einem Prisma hat den Vorteil, daß sich der Reflexionskoeffizient bei geeigneter Wahl der Prismenwinkel sehr stark mit dem Winkel α ändert. Daraus resultiert eine weiter verbesserte Empfindlichkeit. Darüberhinaus ist bei dieser Anordnung eine Änderung der Intensität des gebrochenen Lichts, dh die Änderung des Durchlässigkeitskoeffizienten, ohne Einfluß, da man die Prismenwinkel so wählen kann, daß der Referenzstrahl und der Signalstrahl das Prisma unter dem gleichen Winkel verlassen. Dies ist zB bei einem Prisma mit den Winkeln α , 2α und $(180 - 3\alpha)$ der Fall. Die theoretisch für diesen Fall erreichbare Empfindlichkeit kann ebenso wie Gleichung (4) aus den Fresnelschen Formeln berechnet werden. Dabei resultiert dieselbe Gleichung mit dem einzigen Unterschied, daß gegenüber Gleichung (4) statt des Brechungsindex n sein Reziprokwert $1/n$ steht. Obwohl die so erhaltene Gleichung formal Gleichung (4) entspricht, führt sie doch zu erheblich unterschiedlichen Konsequenzen. So wird zB die Empfindlichkeit für den Grenzwinkel der Totalreflexion unendlich groß. Sie ist jedoch bereits für den Polarisationswinkel je nach dem

Azimutwinkel φ um den Faktor 3 größer als jene bei Verwendung einer planparallelen Platte. Insgesamt ergibt sich bei dieser Anordnung eine gegenüber herkömmlichen Polarimetern um zwei Größenordnungen höhere Auflösung. Die ausnutzbare Auflösung (Empfindlichkeit) der erfindungsgemäßen Anordnung ist vom geforderten Meßbereich des Polarimeters abhängig, beispielsweise von der maximal zu messenden Winkeländerung. Wenn beispielsweise ein Meßbereich von $\pm 0,5^\circ$ angenommen wird, ergibt sich rechnerisch mit $n = 1,5$, $\varphi_e = 5,7^\circ$ und $\alpha = 41,2^\circ$ eine um den Faktor 100 verbesserte Empfindlichkeit.

Die Erfindung wird im folgenden anhand der Zeichnung näher erläutert; es zeigen:

Fig. 1 bis 8: schematische Darstellungen verschiedener Ausführungsformen des erfindungsgemäßen Polarimeters

und

Fig. 9: eine spezielle Bauweise des erfindungsgemäßen Polarimeters zur verletzungsfreien transkutanen Blutzuckerbestimmung.

In den Figuren besitzen die Bezugswahlen folgende Bedeutung:

1 = eine Lichtquelle, die linear polarisiertes Licht emittiert,

2 = erster Modulator,

3 = Probe,

- 4 = $\lambda/4$ -Plättchen,
 4a, 4b = Polarisationsfilter,
 5 = Strahlteiler, erster Demodulator, Analysator,
 6 = Analysator,
 5 7 und 7* = Detektor, beispielsweise Photodiode, Photomultiplier, Phototransistor udgl.,
 8 = Differenzverstärker oder Quotientenbildner,
 9 = Verstärker, zweiter Demodulator,
 10 = Anzeige-, Ausgabe- oder Registriereinrichtung,
 11 = Frequenzgenerator,
 10 12 = Differenzierglied,
 13 = Signalteiler,
 14 = Integrator oder Gleichstromaddierer,
 15 = Verstärker.
 + bzw. - bedeuten bei einem Differenzverstärker den positiven bzw. negativen Eingang, bei einem Quotientenbildner den Zähler bzw. Nenner
 15 * bezeichnet das Referenzsignal.

In Fig. 1 ist ein erstes erfindungsgemäßes Polarimeter dargestellt, bei der die Selektion des der zu bestimmten Komponente zugeordneten Drehwerts durch einen Signalteiler 13 erfolgt, beispielsweise einen Hochpaß für den Fall der Glucosebestimmung in Gegenwart anderer optisch aktiver Blutbestandteile.

Durch die Strahlteilung wird ein vom Absolutwert des Signals unabhängiger Analysenwert erhalten. Als Lichtquelle 25 1 kann sowohl eine herkömmliche Lichtquelle mit Polarisator als auch beispielsweise ein Laser oder eine Laserdiode verwendet werden. Das $\lambda/4$ -Plättchen 4 dient zur Korrektur der Depolarisationswirkung beispielsweise von durchstrahlter Haut oder in der Nähe der Meßstelle liegender Gewebeteile. Der Verstärker 15 entspricht dem

herkömmlichen Endverstärker.

Fig. 2 entspricht prinzipiell der Anordnung von Fig. 1, wobei jedoch zusätzlich ein Modulator 2 vorgesehen ist, der vom Frequenzgenerator 11 angesteuert wird. Als Modulator können beispielsweise ein Faraday-Modulator, ein Lichtmodulator auf der Basis des Kerr-Effekts, ein Lichtamplitudenmodulator wie beispielsweise eine gepulste Laserdiode oder ein Phasenmodulator, also eine die Lichtweglänge verändernde optische Einrichtung, dienen. Der Generator 11, der die Modulationsfrequenz liefert, ist mit dem Verstärker 9 verbunden, der auf die Modulationsfrequenz des Frequenzgenerators 11 abgestimmt ist. Als Verstärker 9 kann beispielsweise ein selektiver Verstärker dienen, insbesondere ein Lock-in-Verstärker. Die Anordnung von Fig. 2, bei der der Lichtstrahl vor dem Eintritt in die Probe moduliert und nach der Signalverarbeitung im Differenzverstärker bzw Quotientenbildner 8 im Verstärker 9 wieder demoduliert wird, dient zur Erhöhung der Meßempfindlichkeit.

Fig. 3 entspricht im Prinzip der Vorrichtung von Fig. 1, wobei die Selektion des der zu bestimmenden Komponente zugeordneten Drehwertinkrements aufgrund der unterschiedlichen Zeit-Konzentrations-Charakteristik unter Verwendung eines Differenzierglieds 12, eines Signalteilers 13, beispielsweise eines Hochpasses bei der in-vivo-Glucosebestimmung, und eines Integrators 14 vorgenommen wird.

Durch die Selektion des der zu bestimmenden Komponente zugeordneten Drehwerts von den Drehwertinkrementen, die durch optisch aktive Begleitsubstanzen mit abweichendem

Zeit-Konzentrations-Verhalten bedingt sind, wird entsprechend eine quantitative Bestimmung der Konzentration einer optisch aktiven Komponente in Gegenwart anderer optisch aktiver Komponenten ermöglicht, sofern das Zeit-Konzentrations-Verhalten der zu bestimmenden Komponente von dem der Begleitkomponenten hinreichend verschieden ist.

Die in Fig. 4 dargestellte Weiterbildung des erfindungsgemäßen Polarimeters unterscheidet sich von der in Fig. 3 dargestellten durch die zusätzliche Modulation durch den Modulator 2, der vom Frequenzgenerator 11 gesteuert wird, sowie die Demodulationsstufe des Verstärkers 9, der auf die Modulationsfrequenz des Frequenzgenerators 11 abgestimmt ist. Durch diese Anordnung kann gegenüber der Anordnung von Fig. 3 eine Empfindlichkeitssteigerung um mindestens eine dekadische Größenordnung erzielt werden, wodurch entsprechend selektive quantitative Bestimmungen optisch aktiver Komponenten in sehr kleinen Konzentrationen möglich sind. Gleiches gilt für die Anordnung von Fig. 2.

Die in Fig. 5 dargestellte apparative Variante beruht, abgesehen von der analogen Signalteilung unter Selektion des Drehwerts der zu bestimmenden Komponente wie in den Fig. 1, 2, 3 und 4, auf dem erfindungsgemäß neuartigen Konzept der Empfindlichkeitssteigerung durch Weglassen des herkömmlichen Analysators, ggf bei gleichzeitiger Vertauschung von Meß- und Referenzzweig gegenüber herkömmlichen Anordnungen mit Strahlteiler und Analysator. Als Strahlteiler, der, wie oben theoretisch erläutert, auch als eine Art Analysator wirkt (als erster Demodulator), ist in Fig. 5 eine planparallele

Platte 5, die beispielsweise aus Kronglas besteht, verwendet. Die Polarisationsfilter 4a, 4b dienen zur Erzeugung der Parallel- bzw. Senkrechtkomponente der Strahlungsintensität. Der an der Oberfläche reflektierte Strahl wird durch das Polarisationsfilter 4b zum Detektor 7 geleitet, der die Lichtintensität in ein elektrisches Signal umsetzt, während der gebrochene Anteil nach Durchlaufen der planparallelen Platte und des Polarisationsfilters 4a auf den Detektor 7* trifft und dort das Referenzsignal erzeugt. In 8 wird die Differenz bzw der Quotient der beiden Signale gebildet, was, nach der erläuterten Signalselektion der zu bestimmenden Komponente, in 10 angezeigt und/oder registriert wird. Durch geeignete Auswahl des Winkels α und ggf auch durch mindestens teilweise Verspiegelung der planparallelen Platte an der Rückseite oder Vorderseite kann die Intensität der auf die beiden Detektoren 7 und 7* gelangenden Strahlung auf den gleichen Wert eingestellt werden. Der Verstärker 15, der zur Korrektur einen angepassten Phasengang (Allpass) aufweisen kann, verstärkt dabei das Signal nochmals im Sinne eines Endverstärkers.

Das in Fig. 6 dargestellte Polarimeter stellt eine erfindungsgemäß besonders bevorzugte Ausführungsform dar und entspricht der Anordnung von Fig. 5 mit dem Unterschied, daß demgegenüber noch vom erfindungsgemäßen Modulationsprinzip (Zweifachmodulationsverfahren) Gebrauch gemacht ist, wobei das von der Lichtquelle emittierte Licht durch den vom Frequenzgenerator 11 gesteuerten Modulator moduliert und anschließend in 9 in abgestimmter Weise wieder demoduliert wird, wodurch die Empfind-

lichkeit ebenfalls gesteigert werden kann.

In Fig. 7 ist eine zur Anordnung von Fig. 5 alternative Ausführungsform dargestellt, bei der als Strahlteiler mit Analysatorfunktion ein Prisma verwendet ist. Die Reflexion erfolgt abweichend von den Fällen der Fig. 5 und 6, bei denen am optisch dichteren Medium reflektiert wird, am optisch dünneren Medium. Der polarisierte Lichtstrahl gelangt nach Durchlaufen der Probe 3 und des $\lambda/4$ -Plättchens 4 zum Prisma 5, an dessen rückwärtiger Grenzfläche der Strahl unter dem Winkel α zur Flächennormalen auftrifft. Der Strahl wird dabei teilweise durchgelassen und teilweise reflektiert. Der reflektierte Teil des Strahls wird an der zweiten rückwärtigen Fläche nochmals reflektiert und teilweise durchgelassen. Beim Austritt aus dem Prisma wird der Strahl gebrochen, trifft nach dem Polarisationsfilter 4b auf den Detektor 7 und erzeugt die Signalspannung. Die durchgelassene Teilintensität der ersten Reflexion an der rückwärtigen Prismenfläche gelangt nach dem Polarisationsfilter 4a zum Detektor 7* und erzeugt dort ein Referenzsignal. Die Ausgangsspannungen der Detektoren 7 und 7* werden in 8 subtrahiert oder dividiert, in 9 verstärkt, in 13 selektiert und nach Endverstärkung in 10 angezeigt.

25

Das in Fig. 8 dargestellte Polarimeter stellt eine erfindungsgemäß besonders bevorzugte weitere Ausführungsform dar und entspricht bis auf die zusätzliche Modulation (Modulator 2, Frequenzgenerator 11, abgestimmter Verstärker 9) dem Polarimeter von Fig. 7.

30

Der Verstärker 15 ist zwar bei der Vornahme einer

Frequenzbandtrennung theoretisch erforderlich, kann aber entfallen, wenn der Phasenfehler in der Eichkurve näherungsweise berücksichtigt wird:

5 In Fig. 9 ist schließlich ein Ausführungsbeispiel für ein erfindungsgemäßes Polarimeter dargestellt, bei dem der optische bzw polarimetrische Teil a miniaturisiert ist. Der Meßteil a kann nach dieser Ausführungsform am
10 Ohr bzw. Ohrläppchen befestigt werden. Der Stromversorgungsteil und Signalverarbeitungsteil b ist dabei vom polarimetrischen Teil a getrennt; dieser Teil des Polarimeters kann zB in einer Jackentasche untergebracht werden. Die Anzeige erfolgt durch eine Anzeigeeinrichtung c, die beispielsweise nach Art einer Armbanduhr gestaltet ist
15 und am Handgelenk getragen werden kann; die Anzeigeeinrichtung kann ferner auch in Schmuck wie beispielsweise einen Armreif, Ring odgl integriert sein.

 Ferner kann der Meßteil mit einem (zB druckenden)
20 Kleinrechner und/oder einem Zeitgenerator gekoppelt werden, wobei eine automatische Aufzeichnung der Konzentrationswerte erreicht werden kann.

 Der polarimetrische optische Teil des erfindungsgemäßen Polarimeters kann miniaturisiert bzw mikrominiaturisiert und vom Stromversorgungs- und Signalverarbeitungsteil bzw vom Anzeigeteil getrennt sein, was insbesondere für in-vivo-Messungen vorteilhaft ist. Der polarimetrische Teil kann erfindungsgemäß entweder, wie in Fig. 9 dargestellt, an einem geeigneten Körperteil befestigt oder ge-
25 tragen werden oder auch in den Körper eingepflanzt sein.
30

 Bei allen Ausführungsformen, insbesondere jedoch beim

implantierbaren Aufbau, ist eine direkte Steuerung oder
Regelung der Insulinzufuhr durch die Glucosemeßvorrich-
tung eine besonders vorteilhafte Weiterbildung; die Er-
findung erlaubt jedoch auch allgemein in Abhängigkeit von
5 der ermittelten Konzentration der optisch aktiven Sub-
stanz eine gesteuerte Zufuhr oder Eindosierung beliebiger
anderer Flüssigkeiten in den Körper.

Die Anzeige der Konzentration der zu bestimmenden
10 optisch aktiven Substanz, beispielsweise der Blutglucose,
kann sowohl im Stromversorgungs- bzw. Signalverarbeitungs-
teil als auch davon getrennt erfolgen und digital oder
analog sein. Es ist ferner auch möglich, daß bei einer
einstellbaren oberen und/oder unteren Signal- und damit
15 Konzentrationsschwelle ein akustisches und/oder optisches
Warnsignal ausgelöst wird. Ferner kann die Konzentration
der zu bestimmenden oder überwachenden Substanz beispiele-
weise durch Tastendruck oder automatisch durch ein opti-
sches oder akustisches Signal angezeigt werden. Auch
20 Konzentrationsänderungen wie beispielsweise ein Steigen
oder Fallen des Blutzuckers kann durch entsprechende Modi-
fizierung des erfindungsgemäßen Polarimeters angezeigt
oder signalisiert werden.

5

Patentansprüche

- 10 1. Verfahren zur Bestimmung gelöster optisch aktiver Substanzen in Gegenwart anderer, ebenfalls optisch aktiver gelöster Substanzen in wäßrigen oder nichtwäßrigen Lösungen durch Polarimetrie unter Erzeugung eines Differenz- oder Quotientensignals,
- 15 d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
- daß zur quantitativen Bestimmung einer optisch aktiven Substanz, deren Konzentration einer zeitlichen Änderung unterliegt, die von der zeitlichen Änderung der Konzentration der anderen optisch aktiven Substanzen hinreichend
- 20 verschieden ist, aus dem resultierenden Differenz- oder Quotientensignal die Signalkomponente mit der Konzentrationsänderungsfrequenz der zu bestimmenden optisch aktiven Substanz durch Signalteilung von den übrigen Signalkomponenten abgetrennt wird.
- 25
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das polarisierte Licht vor dem Durchlaufen der Probe frequenz-, phasen- oder amplitudenmoduliert (1. Modulation) und das aus dem Meß- und Referenzstrahl gebildete
- 30 Differenz- oder Quotientensignal in entsprechender Weise demoduliert wird (2. Demodulation).
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß zur Aufteilung des Lichtstrahls nach der Probe und zur Erzeugung des reflektierten Strahls sowie zur
- 35 ersten Demodulation die Reflexion an einem optisch dichten oder einem optisch dünneren Medium herangezogen wird.

4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß zur Aufteilung des Strahls nach der Probe sowie als erster Demodulator ein Prisma verwendet und der an der Grenzfläche zum optisch dünneren Medium reflektierte und an der zweiten Grenzfläche zum optisch dünneren Medium gebrochene Strahl als reflektierter Strahl herangezogen wird.
5. Verfahren nach Anspruch 3 oder 4, dadurch gekennzeichnet, daß ein Prisma verwendet wird, das im Dreiecksquerschnitt solche Winkel besitzt, daß das eingestrahlte Licht auf beide Grenzflächen zum dünneren Medium hin unter dem gleichen Winkel auftrifft.
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß ein Prisma verwendet wird, das im Dreiecksquerschnitt die Winkel α , 2α und $(180 - 3\alpha)$ aufweist.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 4 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß ein Prisma mit einem Winkel α verwendet wird, bei dem eine maximale Empfindlichkeit des Polarimeters resultiert, wobei der Abstand des Winkels α vom Grenzwinkel der Totalreflexion durch den maximal ausgenutzten Meßbereich festgelegt wird.
8. Hochempfindliches Polarimeter mit
- einer Lichtquelle (1) für polarisiertes Licht,
- einem Probenteil zur Aufnahme der Probe (3),
- einem Strahlteiler (5),
- je einem Detektor (7, 7*) für den Meß- sowie den Referenzstrahl,

einem Differenzverstärker oder Quotientenbildner (8),
einem Signalverstärker (15)
und

5 einer Anzeige-, Ausgabe- oder Registriereinrichtung (10),
g e k e n n z e i c h n e t d u r c h eine plan-
parallele Platte (5) oder ein Prisma (5) als Strahl-
teiler und Analysator.

10 9. Polarimeter nach Anspruch 8

zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprü-
che 1 bis 7,
g e k e n n z e i c h n e t d u r c h

15 einen Signalteiler (13) zur Abtrennung der Signal-
komponente mit der Konzentrationsänderungsfrequenz
der zu bestimmenden optisch aktiven Substanz.

10. Polarimeter nach Anspruch 8 oder 9, gekennzeichnet durch

20 - einen Hoch- oder Tiefpaß bzw. einen Bandpaß (13)
sowie einen Gleichstromaddierer
oder

- ein Differenzierglied (12),

25 - einen Hoch- oder Tiefpaß bzw. einen Bandpaß (13)
und

- einen Integrator (14).

30 11. Polarimeter nach einem der Ansprüche 8 bis 10, dadurch
gekennzeichnet, daß es mikrominiaturisiert ist und in
einen lebenden Organismus eingepflanzt werden kann.

12. Polarimeter nach einem der Ansprüche 8 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß der optische Teil (a) miniaturisiert und zum Tragen am Ohr bzw. zur Messung am Ohrläppchen vorgesehen ist.

5

13. Polarimeter nach einem der Ansprüche 8 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß es mit einer Regel- und/oder Dosiereinrichtung verbunden ist und diese direkt steuert, die in Abhängigkeit von der ermittelten Konzentration der optisch aktiven Substanz eine Flüssigkeit, insbesondere Insulin, in den Körper eindosiert.

10

Die Änderungen werden, gemäss
R 88 stattgegeben.

Den Haag, - 7. 04. 81

Eingangsstelle

Shes
P. J. MASSAAR

Europäisches Patentamt

Erhardtstraße 27

8 München 2

EPA-EPO-OEB
MÜNCHEN
Empfang bestätigt
Receipt acknowledged
Accuse reception

EP 80106584.8 vom 27.10.1980
Dr. Arno Müller

Patentanwälte

Zugelassene Vertreter beim Europäischen Patentamt

Dipl.-Ing. R. BEETZ sen.

Dipl.-Ing. K. LAMPRECHT

Dr.-Ing. R. BEETZ jr.

Rechtsanwalt Dipl.-Phys. Dr. jur. U. HEIDRICH

Dr.-Ing. W. TIMPE

Dipl.-Ing. J. SIEGFRIED

Priv.-Doz. Dipl.-Chem. Dr. rer. nat. W. SCHMITT-FUMIAN

Ihr Zchn. 80106584.8

Your Ref.

Votre Réf.

Unser Zchn. 709-31.565-EP-SF-Bk

Our Ref.

Notre Réf.

München, 10. Februar 1981

EPA-EPO-OEB
DG 1

Reçu le

18 FEB. 1981

Formalprüfung - Aufforderung zur Mängelbeseitigung
Bescheid vom 12.12.1980

/ In der Anlage überreichen wir die vorschriftsmässigen Zeichnungen Fig. 1 bis 9 (dreifach).

Zu den Fig. 7 und 8 führen wir in sachlicher Hinsicht vorsorglich aus, daß in der Druckzeichnung gegenüber der ursprünglichen Fassung der Fig. 7 und 8 bei dem Prisma 5 zeichnerisch klargestellt ist, daß der aus dem optisch dichteren Medium (Prisma) in das optisch dünnere Medium (Luft) austretende Strahl folglich vom Lot weg gebrochen wird, also unter einem größeren Winkel zum Lot an der jeweiligen Austrittsstelle verläuft. Dieser Sachverhalt, der zum Grundwissen der Optik gehört, war in den Fig. 7 und 8 nicht korrekt wiedergegeben und ist in den neuen Fig. 7 und 8 berücksichtigt.

Die vorgenommene Berichtigung entspricht der Korrektur einer offensichtlichen Unrichtigkeit, wie jedem Fachmann absolut geläufig ist.

Eine Änderung des sachlich-technischen Inhalts der Fig. 7 und 8 ist daher mit der Neuanfertigung der Fig. 7 und 8 nicht verbunden.

Anl.

Zeichnung

Patentanwälte
Beetz-Lamprecht-Beetz

W. Beetz

- Seite 2 -

Fig.1

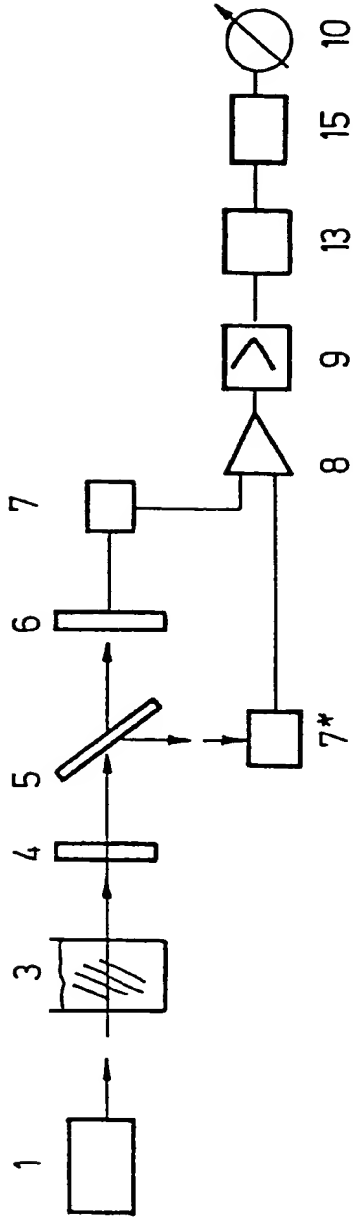
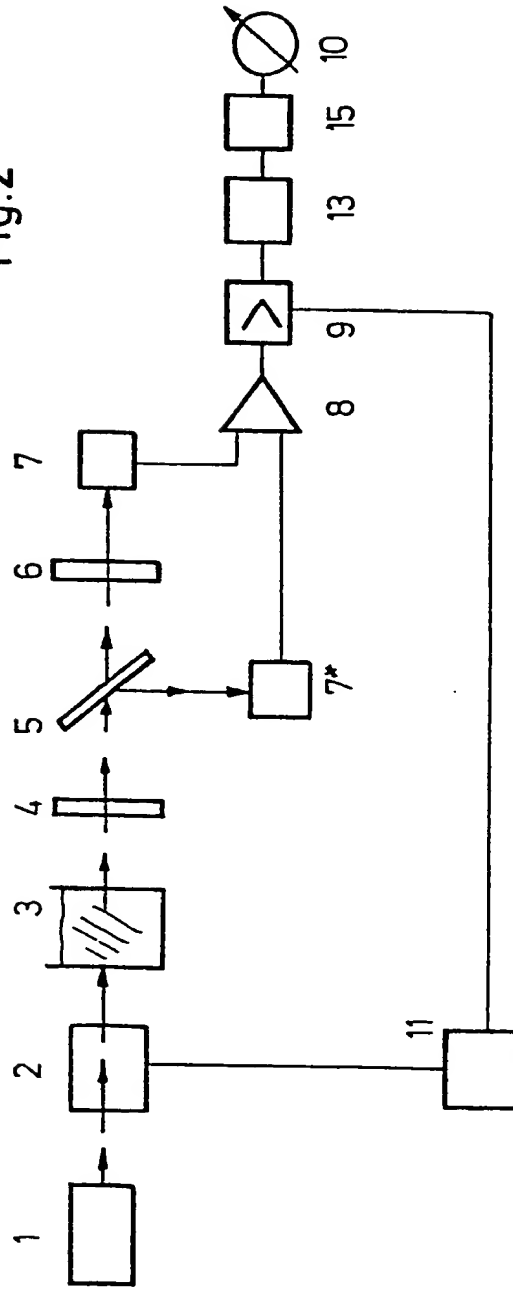
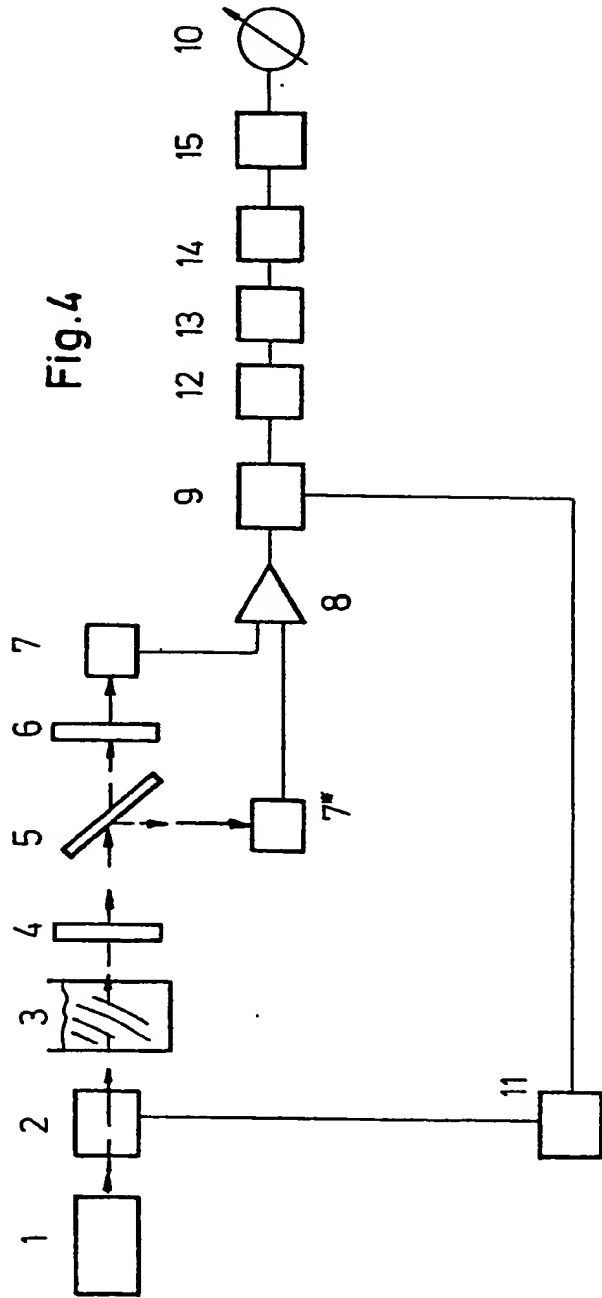
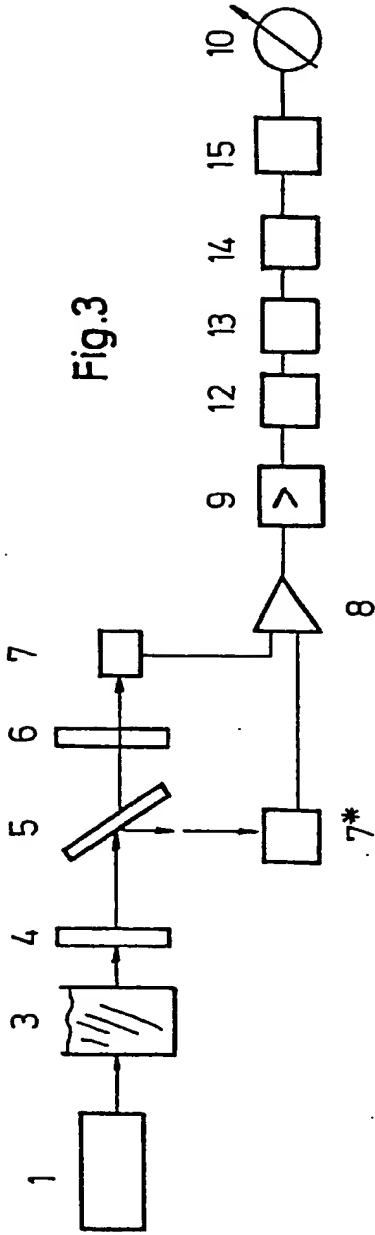


Fig.2





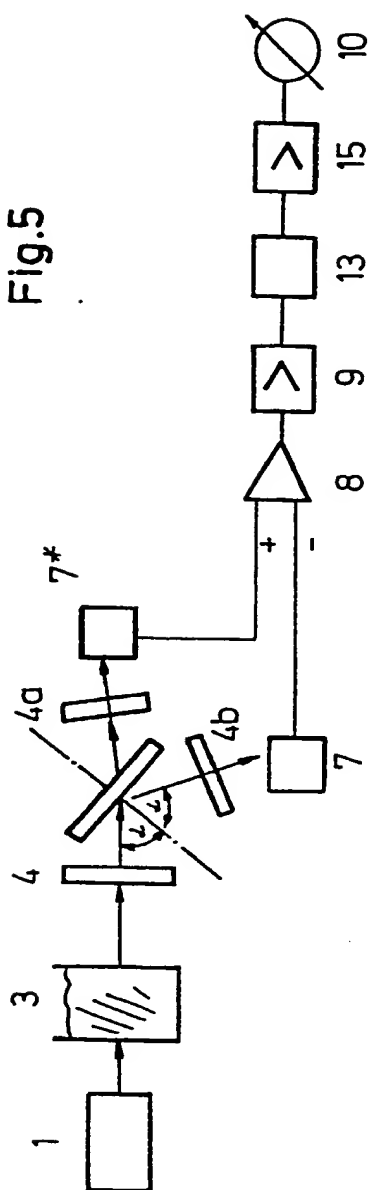


Fig. 6

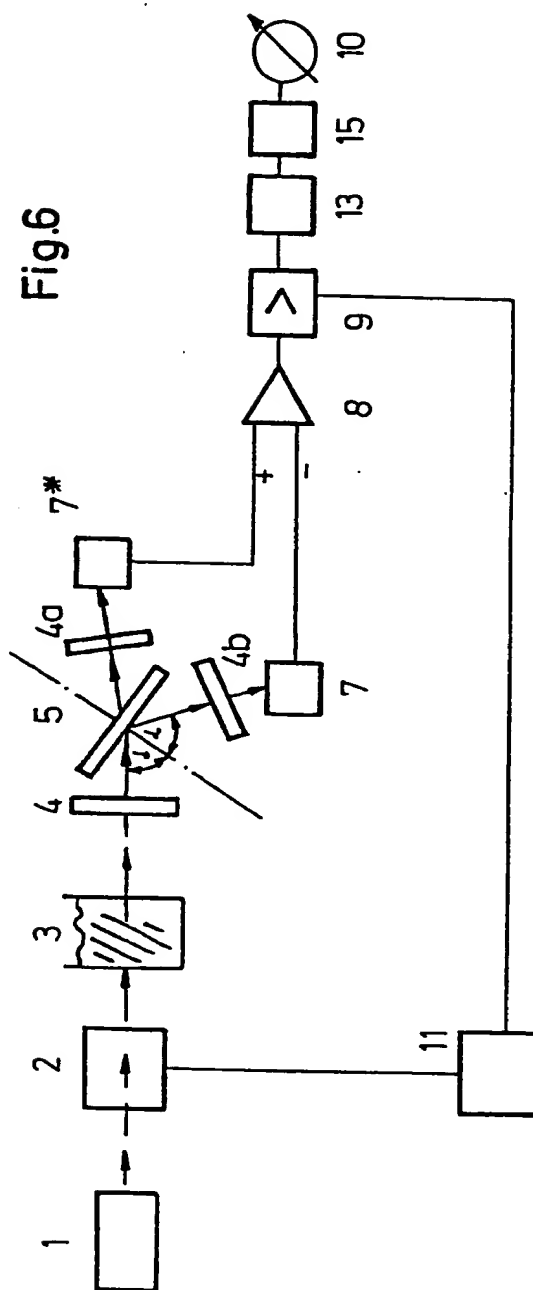


Fig.7

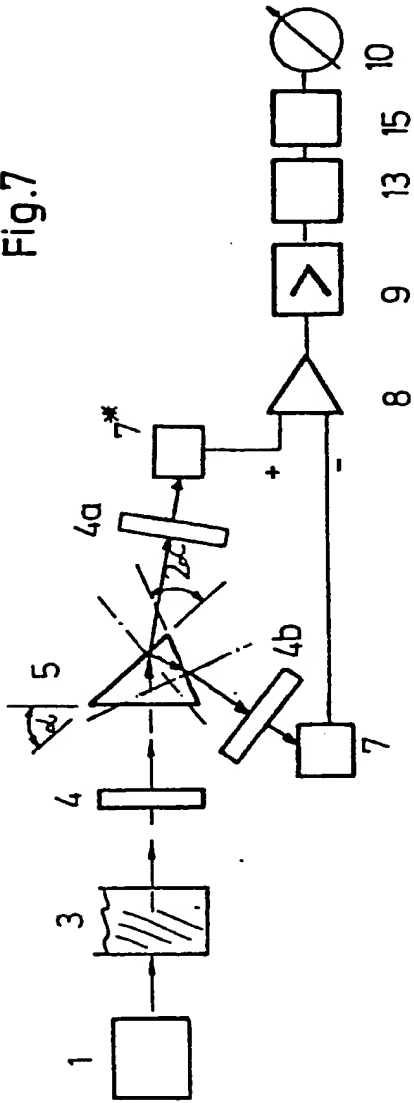


Fig.8

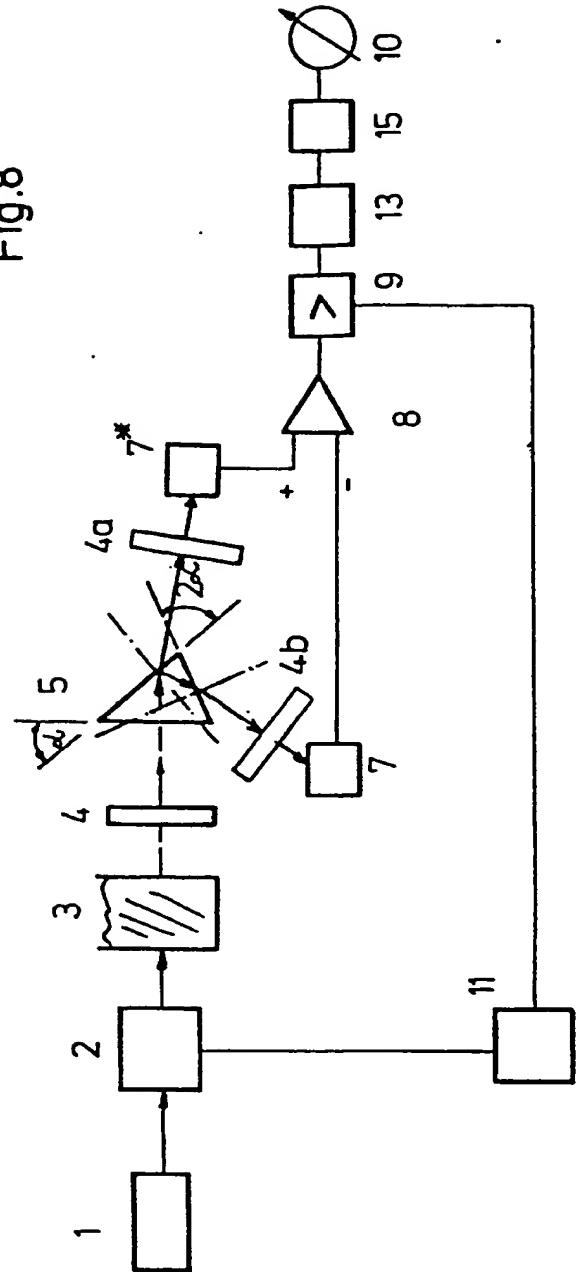
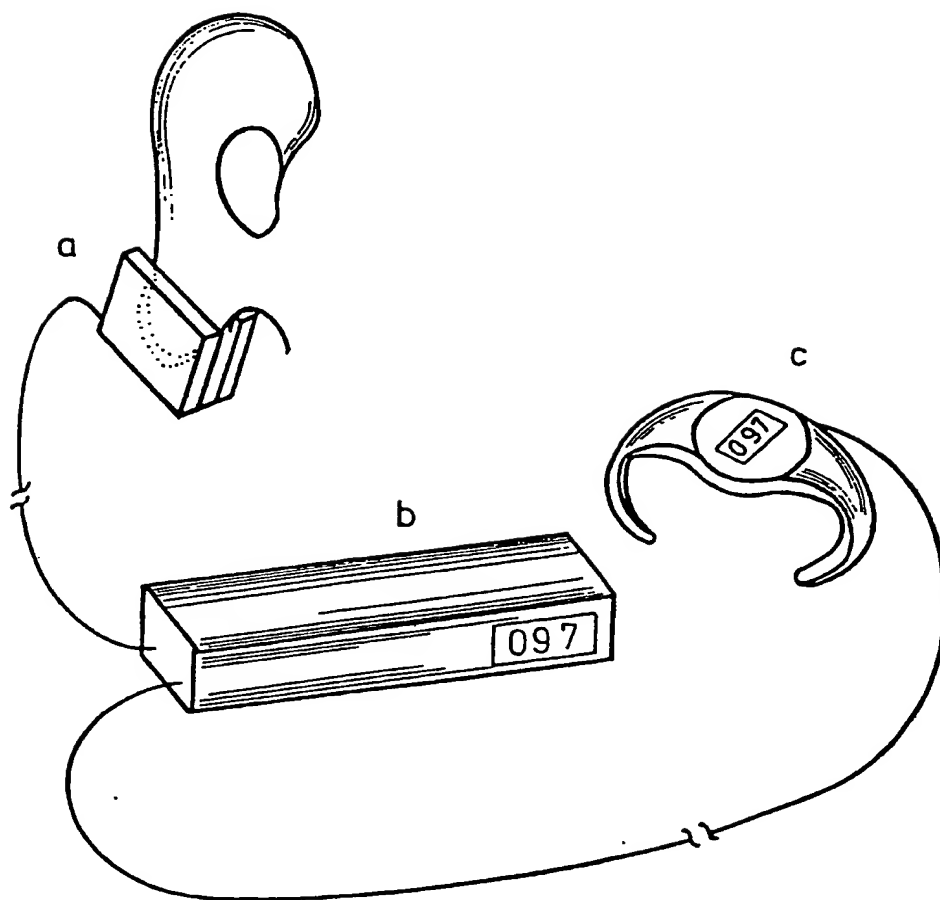


Fig.9





Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

0030610

Nummer der Anmeldung

EP 80106584.8

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl. 7)
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	betrifft Anspruch	
X	FR - A - 2 393 296 (A.MÜLLER) + Gesamt; insbesondere Figur 4; Seite 5, Zeilen 16-22 +	1-3, 8-12	A 61 B 5/00 G 01 N 21/21 G 01 N 33/66
D	& DE-A1-2 724 543 -----		
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl. 7)
			A 61 B 5/00 G 01 N 21/00 G 01 N 33/00
			KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE
			X: von besonderer Bedeutung A: technologischer Hintergrund O: mchtschriftliche Offenbarung P: Zwischenliteratur T: der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E: kollidierende Anmeldung D: in der Anmeldung angeführtes Dokument L: aus andern Gründen angeführtes Dokument Δ: Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument
X	Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.		
Recherchenort WIEN		Abschlußdatum der Recherche 30-01-1981	Prüfer LUDWIG